02

ČASOVÉ ROZMEZÍ
30.–60. den

VELIKOST
5–7,5 cm

PODOBA A TVAR
housenka

VÁHA
3–5 g

ÚVOD

V průběhu této fáze gravidity se ukončením organogenze mění zárodek z embrya na plod. Vytváří se endometriální kalíšky, které iniciují vznik přídatných žlutých tělísek na ováriích a pokračuje vývoj placenty.

DŮLEŽITÉ MILNÍKY TOHOTO MĚSÍCE

Okolo 35. dne
- vývoj endometriálních kalíšků

40. den
- dokončení organogeneze a označení embrya jako plod
- posledním orgánem, který se zakládá, je placenta

Okolo 40. dne
- dorzálně umístěný plod začíná opět klesat ventrálně na prodlužujícím se pupečním provazci
- ultrasonograficky lze rozpoznat jednotlivé části plodu

50. den
- plod opět ve ventrální části anechogenního sférického útvaru

55.–75. den
- možnost lokalizace genitálního hrbolku a rozeznání pohlaví plodu

60. den
- typický koňský vzhled plodu, aktivní pohyb končetinami

PLOD

- **Kompletní organogeneze** je dokončena okolo 40. dne gravidity a od této doby zárodek můžeme označovat jako **plod**. Na plodu je možné pozorovat vyklenutí v místě hlavy, oční víčka, základy pro vznik uší, vyvýšeniny tam, kde se zakládají nozdry a funkční končetiny v oblastech loktů a kolen.

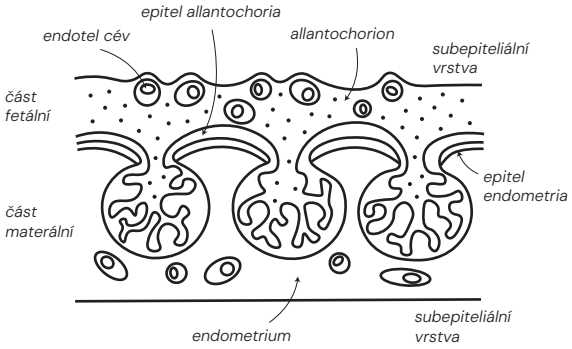
- Vytváření plodových obalů a jejich následné propojení s endometriem se označuje jako **placentace**. Přibližně okolo 40. dne gravidity allantoidní vak zcela obkrouží amnion, ve kterém se nachází embryo, a splyne s choriem v jednotný **allantochorion**. Vzniká tak **placenta**, jako speciální orgán zárodku, zodpovědný za výživu plodu, produkci a metabolismus hormonů a ochranu před negativními vlivy vnějšího a vnitřního prostředí.

Tabulka č. 1: Charakteristika plodových obalů

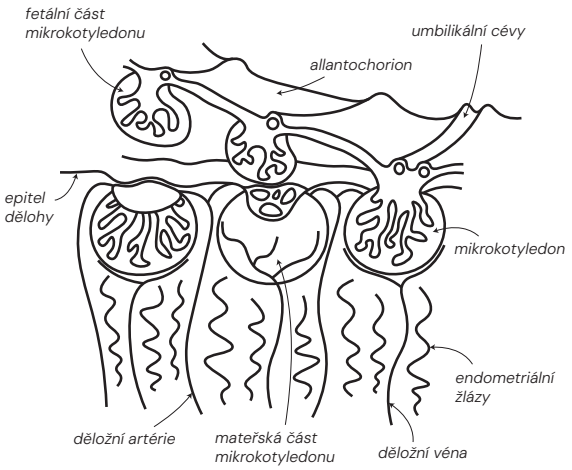
AMNION (blána ovčí) — vnitřní plodový obal, který přímo obklopuje embryo/plod — ochrana zárodku a nejintimnější prostředí — tenká bělavá průhledná struktura — obsahuje čirou tekutinu bez barvy a zápachu
ALLANTOCHORION
ALLANTOIS (blána močová) — prostřednictvím urachu spojen s fetálním močovým měchýřem — sběr odpadních produktů metabolismu embrya/plodu — našedlá barva — obsahuje žluto-červenou tekutinu se zápachem po moči, minerální látky, v pozdním stádiu gravidity je možná i přítomnost hippomanes
CHORION (blána klkatá) — vnější plodový obal, obsahuje velké množství cév — podílí se na výživě zárodku — červená barva a sametová struktura — bez vlastní tekutiny

- Koňská placenta je charakterizovaná jako epiteliochoriální. To znamená, že krev matky je od krve zárodku oddělena šesti vrstvami tkáně – epitel, subepiteliální vrstvu a endotelem cév ze strany alantochoria i endometria. Aby rostoucí plod mohl, i přes malou intimitu fetomaternálního spojení, přijmout od matky dostatek živin, je téměř celý povrch allantochorionu difúzně připojen k endometriu. Samotné spojení zprostředkovávají klky allantochoria, které pevně srůstají s endometriem v mikroskopických strukturách tzv. mikrokotyledonech. Allantochoriové klky chybí jen v místě cervikální hvězdy a endometriálních kalíšků, oblastech uterotubárního spojení, řasách překrývajících hlavní allantoidové cévy a placentárních oblastech degenerace u nohou plodu.

Obrázek č. 3: Vrstvy fetomaternálního spojení u epiteliochoriální placenty



Obrázek č. 4: Histologická stavba mikrokotyledonu



— Žloutkový váček se postupně spotřebovává a ustupuje zvětšujícímu se allantoidovému vaku. Okolo 55. dne z něj zůstává jen drobný pozůstatek na pupeční šňůře plodu.

— Po 60. dni gravidity má plod již typický vzhled koně, zabírá celý obřezlý roh i tělo děložní a aktivně se pohybuje. Rozsah pohybu umožňuje úměrně dlouhá pupeční šňůra, která je v této fázi gravidity již dobře formovaná.

— Až do konce březosti je výživa zárodku zajištěna difúzí živin z krve matky do krve plodu prostřednictvím placenty. Tento způsob výživy nazýváme rovněž jako **hemotrofé**.

KLISNA

— Mimo to, že se klisna nedostala po připuštění opět do říje a nezačala cyklovat, se na ní neprojevují žádné klinické příznaky gravidity.

— Okolo 35. dne se začínají objevovat na děloze v oblasti přiléhajícího choriového pásu endometriální kalíšky. Tyto hormonálně aktivní útvary se diferencují ze speciálních invazivních choriových buněk, které migrují přes bazální membránu endometria až do děložního stromatu. Endometriální kalíšky jsou velké 1–10 cm a mohou být kruhovité, tvaru písmene U či vytvářet jednoduché pruhy tkáně. Funkcí těchto struktur je produkce equinního choriového gonadotropinu (eCG), který má stejné účinky jako luteinizační hormon a jeho působením dochází k ovulaci folikulů či luteinizaci nezovulovaných folikulů na ovariích za vzniku přídatných žlutých tělísek. Progesteron produkovaný v přídatných žlutých tělískách pomáhá udržet graviditu až do doby, než tuto funkci zcela převezme placenta, což bývá okolo 120.–150. dne gravidity. Růst endometriálních kalíšků trvá přibližně do 55.–70. dne, poté stagnuje, až jsou postupně kalíšky imunitním systémem klisny zcela zničeny a odlučují se od stěny endometria individuálně mezi 100.–140. dnem gravidity.

— Vzhledem k veterinárnímu i chovatelskému managementu gravidních zvířat je zapotřebí připomenout, že endometriální kalíšky po svém vzniku přetrvávají v děloze 3.–4. měsíce, a to nezávisle na tom, jestli klisna zůstane březí nebo ne.

HORMONÁLNÍ PROFIL

Produkce progesteronu z primárního žlutého tělíska postupně do 30. dne klesá a jeho hodnota sérové koncentrace se může pohybovat okolo 2,5 ng/ml i u fyziologické gravidity. Se sekrecí progesteronu a udržením gravidity pomáhají přibližně od 35. do 120. dne březosti přídatná žlutá tělíska, která vznikla ovulací nebo luteinizací folikulů na ováriích působením equinního choriového gonadotropinu. Původní primární žluté tělísko na vaječníku zůstává aktivní a eCG podporuje jeho aktivitu.

Přibližně od 35. dne gravidity je v séru klisny detekovatelný **equinní choriový gonadotropin**. Vrchol sekrece tohoto hormonu nastává po 60. dni březosti.

DIAGNOSTICKÉ METODY

VAGINÁLNÍ VYŠETŘENÍ

Vaginoskopie a vaginální palpace nepatří ke zcela spolehlivým metodám určování gravidity u klisny. Nálezem je bledá sliznice s pevně uzavřenými stydkými pysky a krčkem, což ale nemusí být vždy zcela jednoznačné.

REKTÁLNÍ PALPACE

V průběhu tohoto vyšetření je zapotřebí zkušeného examinátora, ale ani tak prostřednictvím této metody nelze odhalit přítomnost různých forem patologické gravidity.

50. den
- palpovatelné zvětšení o velikosti malého melounu přesahuje do těla děložního

TRANSREKTÁLNÍ ULTRASONOGRAFIE

Oproti rané diagnostice březosti klisen, se po zbytek gravidity vyšetření transrektální lineární ultrasonografickou sondou používá pouze na kontrolu zvířat, u kterých lze očekávat komplikace.

Okolo 40. dne
- plod je umístěn dorzálně a začíná opět ventrálně klesat na prodlužujícím se pupečním provazci
- lze rozpoznat jednotlivé části plodu

Okolo 50. dne
- plod je ve ventrální části anechogenního sférického útvaru
- možnost lokalizace genitálního hrbolku a rozeznání pohlaví plodu

Diagnostika gravidity 30. den gestace

Diagnostika gravidity 33. den gestace

Diagnostika gravidity 33. den gestace

STANOVENÍ ECG

Hormon eCG lze detekovat i v séru březích klisen, což může sloužit k alternativním způsobům diagnostiky březosti. Tuto metodu lze využít mezi 35.–120. dnem. Udávané rozmezí je pouze orientační, a proto se relativně snadno může stát, že pokud je vzorek na vyšetření odebrán před vznikem nebo po zániku endometriálních kalíšků, není hladina eCG detekovatelná a výsledek je tím pádem falešně negativní. Naopak hladina eCG v séru klisen, u kterých došlo k embryonální mortalitě, je, z důvodu perzistence endondometriálních kalíšků, stále zvýšená a výsledná diagnostika gravidity bude falešně pozitivní. Případ, kdy může být stanovování eCG přínosné, je například při raném zániku konceptu, kdy ale přesně není možné zjistit, zda již vznikly endometriální kalíšky či nikoliv. Pokud by byla hladina eCG nízká, znamenalo by to, že klisna bude moci být s největší pravděpodobností zařazena zpět do reprodukce i v tutéž připouštěcí sezónu.

RIZIKA A MOŽNÉ PATOLOGIE

Embryonální odúmrť je u koní mnohem častější než fetální. Ale až do 60. dne gravidity je riziko ztráty gravidity relativně vysoké. Klíčové aspekty embryonální odúmrti jsou rozepsány v textovém dokumentu pojednávajícím o 1. měsíci gravidity klisny.

Při ukončení gravidity po 35. do 120. dne, reálné hrozí reálné riziko perzistence endometriálních kalíšků. Aby klisna mohla být v danou sezónu opět zařazena do reprodukce, je důležitá včasná diagnostika a případné řešení nechtěné březosti. Pro zobrazení endometriálních kalíšků je možné využít transrektální ultrasonografie nebo endoskopické vyšetření děložního lumen, nebo lze stanovit hladinu eCG v séru klisny.

ZDROJE

- Bowen, R. (2000). *Endometrial Cups and Secretion of Equine Chorionic Gonadotropin*. Pathophysiology of reproductive system. Retrieved November 5, 2023, from http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/placenta/endocups.html
- Doležel, R., Lopatářová, M., Sedlinská, M., Mráčková, M., Čech, S., Vitásek, R., & Bartošková, A. (2018). *Veterinární porodnictví* (2. přepracované

vydání). Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.
- *Equine chorionic gonadotropin and total estrogen concentrations during pregnancy*. (2016). Veterinary key. Retrieved October 21, 2023, from https://veteriankey.com/pregnancy/
- Kelleman, A. A., & Act, D. (2013, December). Equine pregnancy and clinical applied physiology. In *Proceedings of the 59th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)* (pp. 7-11).
- McCue, P. *Endometrial Cups*. Retrieved October 11, 2023, from https://www.arssales.com/endometrial_cups.html
- McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). (2011). *Equine reproduction*. John Wiley & Sons.
- McCue, P. *Endometrial Cups*. Retrieved October 11, 2023, from https://www.arssales.com/endometrial_cups.html
- Pozor, M. (2016). Equine placenta–A clinician's perspective. Part 1: Normal placenta–Physiology and evaluation. *Equine Veterinary Education, 28*(6), 327-334.
- Pycock, J. F. (©2023). *Early Embryonic Death*. Equine-Reproduction. Retrieved October 15, 2023, from https://equine-reproduction.com/articles/mares/eed
- *The macroscopic structure of the mare's placenta, illustrating microcotyledonary structures*. (2016). Veterinary key. Retrieved October 21, 2023, from https://veteriankey.com/the-placenta/
- *The mature equine placenta, showing the nature of the cotyledons*. (2016). Veterinary key. Retrieved October 21, 2023, from https://veteriankey.com/the-placenta/
- *The Pregnancy Wheel*. (© 2023). University of Guelph. Retrieved October 11, 2023, from https://www.equineguelph.ca/pregnancywheel/
- Trundell, D. (2023). Equine Pregnancy Endocrinology. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.1001467